

Por dentro do círculo: o DNA mitocondrial

A detailed 3D rendering of several mitochondria. The organelles are shown in a golden-yellow color, with their characteristic double-membrane structure and internal cristae. The interior of each mitochondrion is filled with numerous small, white, spherical particles representing mitochondrial proteins. A single, circular DNA molecule is highlighted in a vibrant purple color, positioned within one of the mitochondria to illustrate the article's focus on mitochondrial DNA.

Regina Célia Mingroni Netto

Departamento de Genética e Biologia Evolutiva,
Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo

Autor para correspondência: renetto@ib.usp.br

Palavras-chave: DNA mitocondrial, mitocôndria, herança mitocondrial, doenças mitocondriais, DNA circular, heteroplasmia



Mitocôndrias são organelas fascinantes por vários motivos: são a sede principal da produção de energia sob a forma de trifosfato de adenosina (ATP) na célula, controlam importantes processos, como a sobrevivência e a morte celular, e ainda exibem a peculiaridade de serem as únicas organelas das células animais a conter material genético próprio, o DNA mitocondrial. Neste artigo apresentamos como se organiza, como funciona e qual a importância desta pequena molécula de DNA na nossa saúde e como ela pode ser usada para estudar a evolução dos seres humanos.

As mitocôndrias são organelas celulares envolvidas por dupla membrana, presentes em quase todas as células eucarióticas. São responsáveis por numerosos processos celulares. À medida que elétrons fluem sequencialmente pela cadeia de transporte de elétrons, prótons são bombeados para fora da membrana mitocondrial interna gerando um gradiente eletroquímico. Este “**capacitor**” mitocondrial é a força vital que, acoplado à síntese do ATP, é usada para conduzir muitos processos biológicos. O transporte de prótons contra um gradiente eletroquímico é o processo que possibilita o acoplamento do transporte de elétrons com a fosforilação do ADP em ATP. Portanto, esse processo que combina transporte de elétrons com produção de ATP chama-se **fosforilação oxidativa**.

Além desta função mais lembrada das mitocôndrias, que é a produção das moléculas de ATP por meio do processo de fosforilação oxidativa, elas estão também relacionadas a funções primordiais como manutenção de níveis de cálcio nas células e na regulação de processos que culminam com a **apoptose**.

Estas organelas também são notáveis porque, juntamente com os cloroplastos presentes nas células vegetais, são estruturas que possuem material genético próprio. O DNA mitocondrial (DNAm) tem propriedades genéticas e moleculares muito peculiares quando comparado ao DNA que está no núcleo, nos cromossomos.

ESTRUTURA E FUNCIONAMENTO DO DNA MITOCONDRIAL

O DNA mitocondrial dos seres humanos é circular, tem cerca de 16.600 pares de bases e contém sequências nucleotídicas que correspondem a 37 genes; codifica 13 proteínas que são componentes da cadeia de fosforilação oxidativa, 22 RNA transportadores (RNAt) que atuam na síntese de proteínas mitocondriais, e duas moléculas de RNA ribossômico (12S e 16S, que constituem as subunidades dos ribossomos mitocondriais) responsáveis pela tradução de proteínas que atuam na própria mitocôndria. O conteúdo gênico do DNAm dos humanos é muito representativo do panorama geral presente entre os animais, principalmente entre os

vertebrados, mas também podem ocorrer variações importantes no tamanho e na estrutura dos DNA mitocondriais entre os grandes grupos de seres vivos.

Além disso, é importante lembrar que, em uma mitocôndria, atuam mais cerca de 1300 tipos de polipeptídeos diferentes que são codificados por genes que estão localizados nos cromossomos presentes dentro do núcleo, significando que o funcionamento de uma mitocôndria depende tanto de produtos que são transcritos e traduzidos a partir de genes do DNA mitocondrial (DNAm) como também do produto de numerosos genes presentes no núcleo.

A ESTRUTURA E O FUNCIONAMENTO DOS DNA MITOCONDRIAIS REVELAM A SUA ORIGEM A PARTIR DE BACTÉRIAS

Uma das ideias mais importantes sobre origem da célula eucariótica foi a dedução de que as mitocôndrias originaram-se a partir de **bactérias endossimbióticas** que perderam a independência, ou seja, a capacidade de existência autônoma em relação à célula hospedeira. A proposição foi feita pela primeira vez por Margulis, em 1971. Esse evento de endossimbiose deve ter ocorrido por volta de dois bilhões de anos. Sob tal ótica, o DNA mitocondrial de todos os organismos existentes atualmente deriva da molécula de DNA, que era o cromossomo da bactéria endossimbiote, que deu origem às mitocôndrias. Com o passar do tempo, a maior parte do material genético dessa bactéria foi transferido para o genoma nuclear da célula hospedeira ou foi perdido, de modo que, na maior parte dos organismos atuais, as moléculas de DNAm são muito menores do que o genoma completo de uma bactéria.

De fato, diversas peculiaridades da estrutura e do funcionamento do DNA mitocondrial atestam sua provável origem bacteriana. O DNA mitocondrial é circular na maioria dos organismos, assim como o das bactérias; possui somente uma ou duas origens de replicação ativas e o cromossomo bacteriano tem uma única origem de replicação; é expresso por meio de apenas duas regiões

Capacitor - Termo utilizado em eletricidade para descrever um componente que armazena cargas elétricas num campo elétrico, acumulando desequilíbrio de cargas elétricas. Neste texto, ele foi utilizado, por comparação, para descrever o fenômeno do gradiente de prótons que ocorre na membrana da mitocôndria, que controla a síntese de ATP na cadeia de fosforilação oxidativa.

Fosforilação oxidativa

- Processo que ocorre em bactérias e mitocôndrias no qual a formação do ATP (trifosfato de adenosina) acontece por meio da transferência de elétrons através de uma cadeia transportadora até a molécula de oxigênio.

Bactérias endossimbióticas

Bactérias intracelulares, originalmente parasitas, que têm uma relação de simbiose com as células eucarióticas hospedeiras.

Apoptose - Forma de morte celular programada. É ativada internamente na célula animal como uma espécie de autodestruição. A morte celular na apoptose é mediada por enzimas proteolíticas chamadas de caspases.

o padrão de perda de informação genética foi diferente entre os diversos seres vivos. Ao se avaliar o conteúdo gênico do DNA mitocondrial comparativamente, constatou-se que é no grupo dos protozoários que está o maior “genoma” mitocondrial, talvez o mais similar que tenhamos nos dias de hoje em relação ao que foi o DNA mitocondrial ancestral, quando ocorreu o evento de endossimbiose. Assim, supõe-se que uma bactéria similar às riquetsias deve ter sido envolvida no evento de endossimbiose, e, logo após esse evento, o DNA da mitocôndria, que se originou, deve ter sido semelhante ao DNA mitocondrial de alguns protozoários que ainda existem, mais especificamente os do gênero *Reclinomonas*.

A HERANÇA UNIPARENTAL DO DNA MITOCONDRIAL

Alguns grupos de animais, por exemplo, alguns moluscos e também fungos e plantas exibem o que chamamos de herança biparental do DNA mitocondrial. Nesses organismos, moléculas de DNA mitocondrial herdadas de ambos os parentais estão presentes. No entanto, na vasta maioria dos animais ocorre a herança uniparental do DNA mitocondrial e essa molécula é sempre herdada do gameta materno.

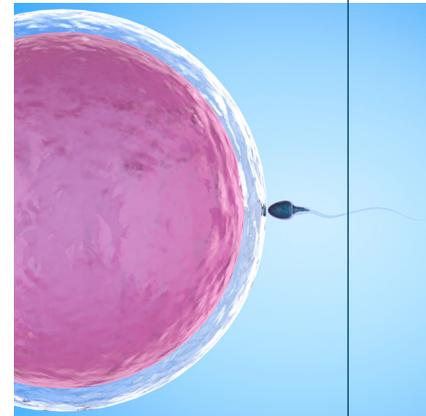
A herança exclusivamente materna na maioria dos animais, principalmente nos mamíferos, incluindo os humanos, tem consequências práticas importantes: primeiro, doenças de herança mitocondrial são transmitidas somente por mulheres aos seus descendentes; a segunda consequência é que estudos filogenéticos e de estimativa do tempo de divergência entre espécies são elaborados sob a premissa de que o DNA mitocondrial não sofre recombinação, uma vez que não coexistem na mesma célula, ou no mesmo indivíduo, moléculas de DNA de origem paterna e materna.

Esses fatos suscitam uma pergunta importante: por que a herança do DNAMt é exclusivamente materna? Infelizmente, a explicação mais popular e a mais repetida em livros didáticos é a mais inadequada dentre todas: diz que na fecundação dos mamíferos, a peça intermediária e o flagelo do espermatozoide não penetram no óvulo, sendo deixados de

fora. Como as mitocôndrias do espermatozoide estão localizadas na peça intermediária, essa explicação parece perfeita para explicar a herança exclusivamente materna do DNAMt. No entanto, desde a década de trinta, sabe-se que na fecundação dos mamíferos, o espermatozoide penetra completamente no óvulo. Há exemplos de raras espécies de roedores em que, excepcionalmente, ocorre eliminação da peça intermediária e do flagelo. Assim, embora a embriologia conheça há décadas o mecanismo correto da fecundação em mamíferos, incluindo a dos humanos, muitos livros ainda retratam erroneamente em esquemas e textos a informação de que a cauda e a peça intermediária ficam para fora na fecundação.

A segunda questão importante para a discussão da herança materna é a questão numérica. É fato, sim, que o número de mitocôndrias presentes em um ovócito é muito maior do que as presentes no espermatozoide, talvez da ordem de 10 mil vezes maior. Consequentemente, o número de cópias de DNAMt paterno será sempre muito inferior ao número de cópias de DNAMt materno após a fecundação. De fato, estima-se que um espermatozoide tenha 1200 cópias de DNAMt, enquanto há cerca de 100 mil presentes em um ovócito, o que reduz significativamente a chance de um organismo herdar moléculas de DNAMt paterno. Mas, ainda que levemos em conta a questão numérica, seria admissível que com alguma frequência houvesse transmissão de DNAMt paterno à prole ou que houvesse relatos frequentes de transmissão paterna de doenças de herança mitocondrial, o que não ocorre.

A partir de 1999, trabalhos importantes evidenciaram a presença de mecanismos celulares que culminam com a destruição das mitocôndrias oriundas do espermatozoide logo após a fecundação. Sutovski e colaboradores, em 1999, mostraram que as mitocôndrias dos espermatozoides de bovinos tinham suas proteínas marcadas com ubiquitina, um pequeno peptídeo celular, que tem como função marcar estruturas e organelas celulares para destruição por meio de uma via celular conhecida como a do **proteassomo**. Sutovski demonstrou que o tratamento dos espermatozoides dos bovinos com anticorpos anti-u-



Proteassomo ou **proteossomo** - é um aparato celular, formado por muitas subunidades proteicas, que destrói proteínas anormais. Trata-se de uma protease dependente de ATP que corresponde a cerca de 1% do total das proteínas presentes na célula. O proteassomo age sobre proteínas que foram marcadas especificamente para destruição por meio de ligação covalente a uma pequena proteína, a ubiquitina.

biquitina reduziu drasticamente a destruição das mitocôndrias paternas e permitiu a transmissão de DNAm_t paterno aos descendentes. Após o estudo primordial de Sutovski, estudos em outros grupos de animais que exibem herança uniparental do DNAm_t foram conduzidos e outros mecanismos celulares que impedem a transmissão de DNAm_t paterno foram esclarecidos. Por exemplo, em *Drosophila*, ocorre redução do número e eliminação de moléculas de DNAm_t paterno durante o processo de amadurecimento do espermatozoide. No verme *Caenorabditis elegans*, os lisossomos, por meio do processo de autofagia, são os principais responsáveis por destruir mitocôndrias paternas após fecundação. Hoje, investiga-se muito nos dias de hoje quais os mecanismos, dentre os três mencionados acima, são os presentes ou os preponderantes nos diferentes grupos de animais.

Como resultado destes mecanismos de eliminação de mitocôndrias paternas, a premissa de que o DNA mitocondrial tem herança exclusivamente materna permanece válida. Em apenas um único exemplo na espécie humana foi relatada a transmissão de DNA mitocon-

drial de pai para o filho, um rapaz afetado por miopatia decorrente de uma pequena deleção no DNA mitocondrial. Desde então, mesmo após várias investigações com técnica muito precisa, o chamado sequenciamento massivo paralelo (ou sequenciamento de nova geração) de genomas mitocondriais inteiros não foram detectados outros casos de transmissão paterna de DNAm_t, indicando que o caso relatado realmente é excepcional.

AS DOENÇAS DE HERANÇA MITOCONDRIAL

Ao contrário das doenças causadas por mutações no DNA nuclear, que são herdadas de acordo com as leis Mendelianas de transmissão, o DNA mitocondrial tem transmissão exclusivamente materna. Assim, as doenças decorrentes de mutações no DNA mitocondrial, desde que tenham ocorrido na linhagem germinativa feminina, podem ser transmitidas para todos os descendentes das mulheres que possuem tais mutações. Mas quando um homem herda uma doença decorrente de mutação no DNA mitocondrial, não a transmite aos seus descendentes (Figura 2).

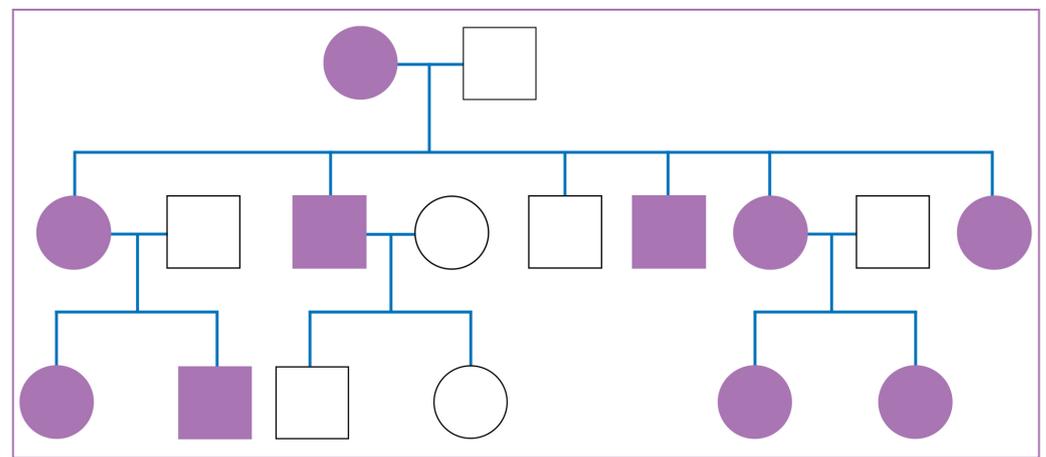


Figura 2. A figura mostra a genealogia de uma família em que existe uma doença de herança mitocondrial. Os símbolos escuros indicam pessoas afetadas pela doença. Observe que as mulheres afetadas transmitiram a característica aos seus filhos, mas os homens afetados, não. Observe também que há um homem que, embora seja filho de mulher afetada e provavelmente tenha herdado a mutação mitocondrial, não manifestou a doença.

As doenças hereditárias de herança mitocondrial são muitas e a maioria caracteriza-se por fenótipos que incluem alterações simultâneas em vários órgãos e sistemas. Algumas têm muitos sintomas diferentes e por isso são nomeadas por acrônimos, ou seja, pelas siglas dos sinais clínicos mais comuns. Por exemplo, destacam-se algumas doenças

como LHON (do inglês, *Leber hereditary optic neuropathy*) que se caracteriza por cegueira; MERRF (do inglês, *myoclonic epilepsy and ragged red fiber disease*), doença neurológica que inclui a epilepsia como sintoma e também alterações das fibras musculares; MELAS (do inglês, *mitochondrial encephalomyopathy and stroke-like episodes*), encefala-

lopatia que inclui episódios semelhantes a derrames. Estas doenças são difíceis de diagnosticar clinicamente porque há sobreposição entre os sintomas de cada uma delas. São complicadas as relações entre as mutações e os quadros clínicos: quadros clínicos muito parecidos surgem de mutações em genes mitocondriais diferentes e mutações em um mesmo gene mitocondrial que acarretam, às vezes, várias síndromes distintas.

Apesar de muitas doenças diferentes serem causadas por mutações no DNA mitocondrial, há vários sintomas semelhantes em muitas delas. Por exemplo, a ocorrência de sintomas musculares (miopatias mitocondriais), problemas neurológicos (convulsões, episódios semelhantes a derrames, tremores semelhantes a Parkinsonismo), a ocorrência de disfunções endócrinas (como diabetes mellitus) e de disfunções sensoriais, como a atrofia óptica e a surdez, que são frequentes entre os afetados. A hipótese para explicar esses achados clínicos é a de que os órgãos e tecidos mais comprometidos são os com mais elevada demanda de energia sob a forma de ATP, produzido na mitocôndria, ou que, pelo menos, estes órgãos precisam responder de forma rápida a mudanças de demanda de produção de energia.

Embora quase todas as doenças hereditárias decorrentes de mutações nos genes que ficam no núcleo exibam expressividade variável dos quadros clínicos, nas doenças de herança mitocondrial essa variabilidade é muito maior. Apesar de todos os indivíduos de uma irmandade herdarem o mesmo tipo de mutação mitocondrial, ocorrem indivíduos com graus muito variáveis de manifestação da doença e às vezes há indivíduos que nem manifestam o quadro clínico.

A principal explicação para essa enorme variabilidade de expressão reside em um fenômeno molecular que ocorre somente na herança mitocondrial, a chamada **heteroplasmia**. O fenômeno está relacionado ao fato de que há várias cópias de DNAm em cada célula. Como cada célula contém muitas mitocôndrias, cada mitocôndria contém várias moléculas de DNAm. Então, cada célula tem uma população grande de moléculas de DNAm. Quando surge uma mutação no

processo de replicação de uma única molécula de DNA localizada em uma única mitocôndria, como é possível que essa mutação possa passar a estar presente em todas as moléculas de DNAm de um indivíduo e que ela possa ser transmitida à geração seguinte? Isso indica que existem estágios intermediários nesse processo, nos quais nem todas as moléculas de DNA mitocondrial dos indivíduos têm sequência idêntica. A heteroplasmia então consiste em uma espécie de **mosaicismo** de sequência nucleotídica mitocondrial que surgiram por mutações no DNA mitocondrial. Quando uma célula heteroplásmica divide-se, sequências de DNAm selvagens ou mutadas distribuem-se ao acaso nas células filhas. Então, a frequência dos genótipos mitocondriais do indivíduo pode sofrer **deriva** em relação à frequência e à distribuição da heteroplasmia.

Caso essa situação de heteroplasmia venha a se instalar em células da linhagem germinativa de uma mulher, ela pode ser transmitida às futuras gerações. Se uma mutação que está em heteroplasmia for transmitida e causar uma doença, pode-se ter, a partir daí, a transmissão nessa família de uma doença de herança mitocondrial. Hoje sabe-se que pessoas da mesma família podem herdar proporções diferentes de DNA mitocondrial mutado e não mutado e que isso pode afetar a gravidade da doença. Também se sabe que a distribuição do DNA mitocondrial mutado e não mutado nos diferentes tecidos influencia sintomas e com que gravidade eles se manifestam. É conhecido que algumas doenças mitocondriais só se manifestam se a proporção de DNA mutado no indivíduo ou em um tecido for maior do que um certo limiar. Em resumo, a heteroplasmia, em muitos casos, explica porque há tanta variabilidade clínica nas doenças de herança mitocondrial.

No entanto, algumas famílias transmitem pela linhagem feminina somente DNA mitocondrial mutado, sem heteroplasmia detectável. Então, por que nessas famílias também ocorre variabilidade nos sinais clínicos da doença? Outros fatores são muito importantes na manifestação de algumas doenças, como estresse e idade, que influenciam muito o aparecimento dos sintomas.

Mosaicismo - propriedade que têm organismos em que ocorrem pelo menos duas linhagens celulares com constituição gênica ou cromossômica distinta, os mosaicos. As diferenças podem decorrer de alterações de pequena escala na molécula de DNA ou de alterações cromossômicas surgidas em divisões celulares pós-zigóticas.

Deriva - alteração aleatória de frequências gênicas decorrentes do acaso.

Heteroplasmia - Fenômeno que se caracteriza pela coexistência, em uma mesma mitocôndria, ou em uma mesma célula, ou em um mesmo tecido ou em um mesmo indivíduo, de moléculas de DNA mitocondrial com sequências nucleotídicas diferentes.

Antibióticos - Substâncias com ação antimicrobiana, produzidas por seres vivos, que agem em pequenas concentrações. A rigor, o termo deve ser aplicado somente a substâncias naturalmente produzidas por seres vivos, mas popularmente acabou sendo utilizado tanto para designar substâncias naturais como artificialmente sintetizadas em laboratório.

Aminoglicosídeos - Grupo de fármacos utilizados em tratamento de várias infecções bacterianas com estrutura química derivada de carboidratos. São medicamentos bactericidas que geralmente atuam inibindo a síntese proteica das bactérias. São fármacos desta classe a estreptomicina, canamicina, gentamicina, tobramicina, ampicacina, netilmicina, arbecacina, neomicina, paromomicina e aparmicina.

Espécies reativas de oxigênio - é um termo abrangente utilizado para descrever moléculas com propriedades químicas e reatividades muito distintas entre si. Na cadeia de fosforilação oxidativa, frequentemente, o termo EROS é usado para descrever o radical ânion superóxido (O₂⁻), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o radical hidroxila (·OH) que são intermediários da redução do oxigênio molecular (O₂) presente na atmosfera à água (H₂O). A principal fonte celular de EROS na célula são as mitocôndrias, como resultado de perdas de elétrons na cadeia transportadora. Em excesso, EROS podem causar danos cumulativos no DNA, inclusive mutações.

Em outros casos, fatores ambientais são muito importantes na manifestação do quadro. Em algumas formas de surdez de herança mitocondrial, o quadro clínico é muito agravado se o indivíduo receber tratamento com certos medicamentos. Esse é um exemplo realmente notável na genética humana do papel do ambiente na manifestação de uma característica hereditária: algumas mutações no DNA mitocondrial, no gene que codifica o RNA ribossômico mitocondrial 12S, aumentam muito a susceptibilidade dos indivíduos a manifestarem perda de audição. Dentre essas, a mutação mitocondrial m.1555A>G é a mais frequente. Mais ainda, a perda de audição, que normalmente é progressiva e de instalação tardia, pode ser antecipada e se instalar de modo muito grave se o indivíduo com a mutação receber tratamento com **antibióticos** ou quimioterápicos (antibióticos sintéticos) do grupo dos **aminoglicosídeos**. Apesar desses antibióticos terem uso restrito a situações de risco de morte no ambiente hospitalar, a identificação dessa mutação tem importância no aconselhamento genético e na prevenção de novos casos na família. Supõe-se que essa substituição, que acarreta uma troca de base no RNAr mitocondrial, torna o ribossomo mitocondrial mais semelhante em sua estrutura ao ribossomo bacteriano ancestral, aumentando sua afinidade pelos antibióticos aminoglicosídeos. O mecanismo de ação dos aminoglicosídeos é a inibição da síntese proteica bacteriana. Assim, curiosamente, o ribossomo mitocondrial passa a ser afetado pelo medicamento de modo análogo ao que ocorre com o ribossomo bacteriano.

Além disso, não podemos nos esquecer que existem cerca de 1500 proteínas importantes ao funcionamento da mitocôndria e que somente 13 delas são codificadas pelo DNA mitocondrial. Isso significa que variações genéticas em centenas ou milhares de genes nucleares que codificam produtos proteicos que atuam na mitocôndria podem ajudar a amenizar ou a piorar os quadros de disfunção mitocondrial decorrentes dessas doenças. Em outras palavras, o genótipo do indivíduo em genes nucleares também é importante na função mitocondrial e influencia a manifestação das doenças.

A TAXA DE MUTAÇÃO NO DNA MITOCONDRIAL É MAIS ELEVADA DO QUE A DOS GENES NUCLEARES

Tem sido observado nos humanos e em praticamente todas as espécies estudadas que a taxa de mutações do tipo substituição de nucleotídeos no DNAm_t é 10 vezes maior do que uma sequência localizada no genoma nuclear. Essas altas taxas resultam em uma enorme variedade de sequências de DNA mitocondrial nas populações humanas, principal razão pela qual o DNA mitocondrial é tão utilizado em estudos populacionais e na identificação individual (incluindo aplicações forenses). Existem sistemas de reparo do DNAm_t ativos na mitocôndria, porém eles parecem ser menos eficazes do que os presentes no núcleo. Além disso, vários outros fatores explicam essa elevada taxa de mutação: por causa de sua função de gerar ATP por meio da fosforilação oxidativa, a concentração de **espécies reativas de oxigênio** na mitocôndria é elevada. Essas moléculas provocam danos à molécula de DNA e podem resultar em mutações se não forem devidamente reparados. Um segundo fator está relacionado ao elevado número de cópias e a aparente maior taxa de renovação das moléculas de DNA mitocondrial. Isso significa que, por unidade de tempo, uma molécula de DNA mitocondrial replica-se mais vezes quando comparada às moléculas de DNA presentes no núcleo. Também conta o fato de que o DNA mitocondrial não está organizado em nucleossomos, enrolado em histonas, como estão organizados os cromossomos que estão no núcleo, o que pode aumentar a vulnerabilidade a danos.

O DNA MITOCONDRIAL E SUA RELAÇÃO COM O ENVELHECIMENTO

Vários estudos estabeleceram uma correlação importante entre a ocorrência de mutações no DNA mitocondrial presente em tecidos somáticos dos humanos e de diversos animais e a sua idade. Os dados servem de base para a sustentação de um conjunto muito interessante de ideias sobre o papel da

mitocôndria e do DNA mitocondrial no envelhecimento celular.

A observação de que indivíduos mais idosos têm maior frequência de DNA mitocondrial mutado do que os mais jovens levanta a seguinte questão: as mutações no DNA mitocondrial são uma das causas do envelhecimento das células e do organismo, ou são simplesmente uma consequência, um efeito colateral desse envelhecimento?

Esse conjunto de ideias ficou conhecido na literatura como “teoria mitocondrial do envelhecimento” ou “teoria do envelhecimento mitocondrial”. De acordo com a teoria, as espécies reativas de oxigênio produzidas na cadeia de fosforilação oxidativa que ocorre na mitocôndria para produzir ATP têm alta probabilidade de mutar o DNA mitocondrial com o passar do tempo. Como o DNA mitocondrial codifica elementos importantes da cadeia de transporte de elétrons, os danos produzidos ao DNAm, se não devidamente reparados, levam a mutações que provocam deficiência bioenergética. Então, supõe-se que, com o avanço da idade, a cadeia de fosforilação oxidativa torna-se cada vez mais ineficiente e produz mais espécies reativas de oxigênio. Sob esse raciocínio, o DNA mitocondrial acumula cada vez mais mutações com o passar do tempo. Então, a cadeia de fosforilação oxidativa também se torna mais ineficiente e mais espécies reativas de oxigênio são produzidas alterando o DNA mitocondrial. O resultado desse círculo vicioso são mitocôndrias cada vez mais disfuncionais em células com déficit bioenergético e mitocôndrias tão danificadas que desencadeiam processos de apoptose, dos quais resulta a morte celular em vários tecidos e órgãos.

A observação de que indivíduos mais idosos têm mais mutações no DNA mitocondrial favoreceu essa hipótese, mas, para colocar a hipótese em teste, foram desenvolvidas linhagens de camundongos geneticamente modificados que receberam uma versão mutada do gene nuclear que codifica a polimerase Gama, enzima que replica o DNA mitocondrial dos mamíferos. A mutação no gene que codifica essa enzima aboliu a capacidade da enzima de corrigir seus erros de incorporação de nucleotídeos na replicação.

O resultado previsto e confirmado dessa manipulação foi a produção de uma linhagem de camundongos com elevadas taxas de mutações mitocondriais em seus tecidos somáticos. Os camundongos apresentaram, conforme esperado, diversos sinais de aceleração do envelhecimento biológico, como por exemplo, perda de peso, perda de musculatura, escoliose e perda de pelos. O modelo animal confirmou a relação entre elevadas taxas de mutação no DNA mitocondrial e envelhecimento orgânico. No entanto, a teoria do envelhecimento mitocondrial previa que tais animais teriam uma produção aumentada de espécies reativas de oxigênio, o que não foi constatado. Os autores desses estudos e de outros estudos então propuseram que os sintomas dos camundongos relacionados ao envelhecimento eram devidos ao aumento da taxa de apoptose em vários tecidos.

Os camundongos com defeitos de polimerase Gama são conhecidos na literatura como camundongos *mutators* e até hoje são intensamente estudados no que diz respeito a aspectos bioquímicos, celulares e fisiológicos do envelhecimento. Em um estudo recente foi demonstrado que o treinamento intenso dos camundongos com **exercícios aeróbicos** reverteu diversos sintomas do envelhecimento. Mitocôndrias mais íntegras e saudáveis, assim como um quadro de saúde global melhor, foram observados nos camundongos treinados quando comparados aos não treinados. Esses resultados são muito importantes porque reforçam o papel importante do exercício físico na manutenção da saúde e da longevidade.

MUTAÇÕES NO DNA MITOCONDRIAL REVELAM A SUA ORIGEM GEOGRÁFICA

Tendo em vista o fato de que a herança do DNA mitocondrial nos humanos é uniparental e exclusivamente materna, a consequência biológica desse fenômeno é a de que duas mutações mitocondriais germinativas que ocorreram em indivíduos distintos, jamais estarão presentes em um mesmo indivíduo, de modo a permitir que ocorra recombinação entre elas. Ou seja, novas mutações ocorrem no DNA mitocondrial e são

Exercícios aeróbicos -

Termo usado para descrever exercícios com elevado consumo de oxigênio, com força de contração muscular mais reduzida e com mais elevada dependência da produção de energia pela mitocôndria, em comparação a outras formas de exercício. Considera-se que este tipo de exercício melhora a utilização de oxigênio e aumenta a biogênese de mitocôndrias no músculo esquelético.

Haplótipo - combinação de alelos em mais de um locus cromossômico situados na mesma molécula de DNA, ou seja, em um mesmo cromossomo. O termo se aplica aos alelos em locus vizinhos situados em um mesmo cromossomo de um par de homólogos ou situados em moléculas de DNA com transmissão uniparental, como é o caso do DNA mitocondrial e do DNA do cromossomo Y.

transmitidas pela linhagem materna e todos os descendentes as herdam. Se uma segunda mutação ocorrer numa certa linhagem, constituirá um novo **haplótipo** mitocondrial que jamais se recombinará com outro haplótipo que surgiu em outra linhagem. Por causa dessa falta de recombinação, os haplótipos nessas moléculas acumulam diversidade genética somente pelo mecanismo da mutação.

Existe, na verdade, maquinaria capaz de promover molecularmente a recombinação entre moléculas de DNA mitocondrial, mas para que a recombinação tenha qualquer efeito genético no organismo, ou qualquer consequência evolutiva para a população, ela deve ocorrer entre duas moléculas de DNAm que tenham diferentes combinações de mutações, ou seja, de diferentes haplótipos, derivadas de dois indivíduos distintos. Para isso ocorrer, deveria ocorrer transmissão paterna de DNA mitocondrial, o que não ocorre normalmente na nossa espécie. Por isso, o impacto de eventos de recombinação que tenham ocorrido no DNAm é considerado desprezível, irrelevante do ponto de vista da biologia evolutiva.

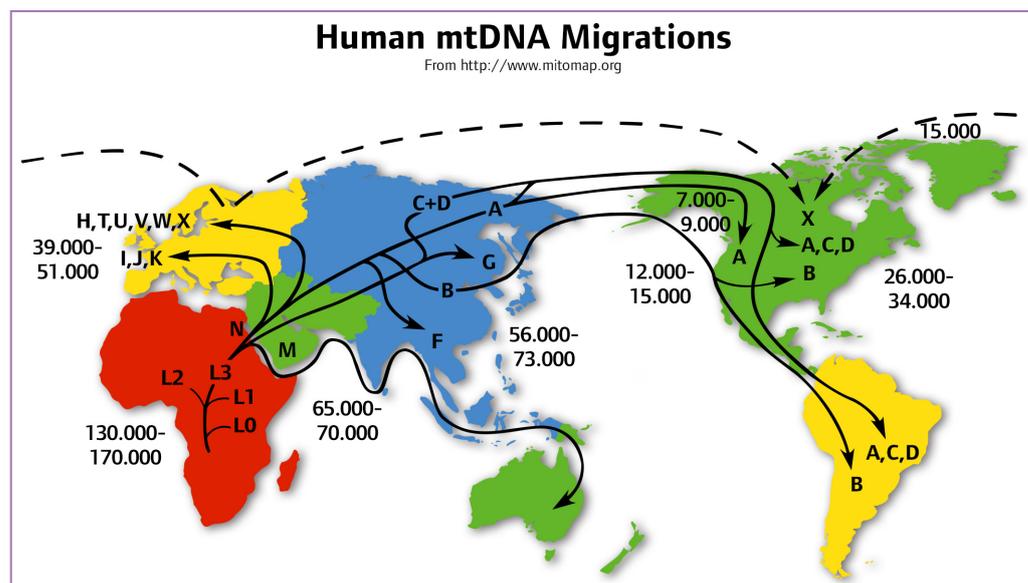
O acúmulo de sucessivas mutações casuais no DNAm, seguido de eventos de migração, seleção e adaptação levou à produção de agrupamentos regionais de haplótipos relacionados, os chamados haplogrupos. Em

outras palavras, a reconstrução filogenética detalhada, levando em conta todas as variantes presentes nos genomas mitocondriais dos humanos atuais, levou à classificação atual em haplótipos e ao agrupamento de haplótipos similares que compartilham algumas mutações características, em haplogrupos mitocondriais. A reconstrução permitiu também correlacionar a ocorrência dos haplogrupos com sua distribuição geográfica e a compreender melhor como e quando os haplogrupos dispersaram-se pelo planeta desde a origem dos humanos modernos, há cerca de 200 mil anos. Assim, o estudo das sequências de DNA mitocondrial de um ser humano permite sua classificação em um haplogrupos, o que permite inferir sua origem geográfica. Por exemplo, entre os brasileiros atuais, população com elevado nível de miscigenação, é possível identificar a presença de DNA mitocondrial classificado em haplogrupos característicos de nativos americanos (indígenas), de europeus e de africanos (Figura 3). A classificação das sequências de DNAm em haplótipos e haplogrupos é muito importante em estudos sobre a ancestralidade das populações.

Além disso, o estudo da molécula de DNA mitocondrial, cuja sequência nucleotídica pode variar muito entre indivíduos da mesma população, é muito útil em estudos genéticos forenses e **análises de vínculo genético**.

Análises de vínculo genético - Termo utilizado para descrever as análises, principalmente baseadas no estudo da molécula de DNA, que buscam investigar as relações de parentesco entre indivíduos, por exemplo, a investigação de paternidade ou maternidade.

Figura 3. Distribuição dos haplogrupos mitocondriais nos diferentes continentes, incluindo a estimativa da época da chegada de cada um deles a cada região geográfica. Fonte <http://www.mitomap.org>.



EXISTIU UMA EVA MITOCONDRIAL?

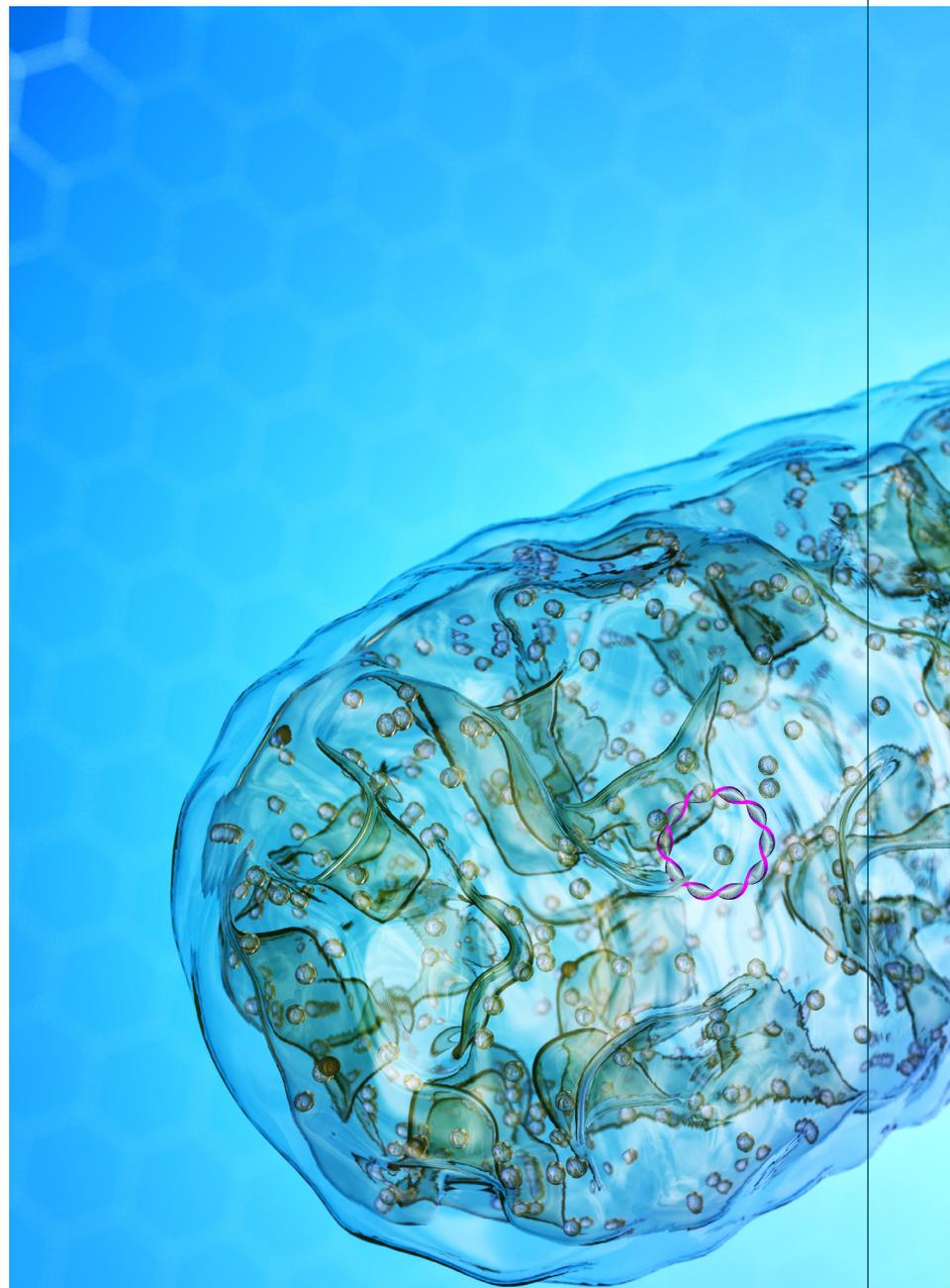
Estudos filogenéticos das sequências de DNA mitocondrial dos humanos dispersos por todas as regiões do planeta permitiram estimar há quanto tempo e onde ocorreu a molécula de DNAm_t ancestral de todas as linhagens que existem hoje. Esse tipo de estudo permitiu estimar o TMRCA (do inglês, *time of the most recent common ancestor*, tempo do mais recente ancestral comum) em cerca de 172 mil anos. Os estudos também apontam a África como o local de origem das linhagens mais antigas. O primeiro estudo desse tipo foi realizado por Cann, Stoneking e Wilson em 1987. Os resultados desses autores sugeriram que o DNAm_t ancestral de todos os humanos datava de cerca de 200 mil anos. Na época, o resultado levou a muito alarde e também a muitas interpretações, algumas um pouco fantasiosas. O fato do editorial da própria revista científica *Nature*, revista na qual o artigo foi publicado, ter se referido ao achado como “Eva mitocondrial” acabou por levar a que se tecessem conclusões por parte de leigos que não correspondiam exatamente às que o trabalho permitia tecer. O fato de a linhagem de DNAm_t ancestral de todos os humanos que vivem hoje ter ocorrido há 172 mil anos não significa que essa foi a única que existia no planeta naquela ocasião. Outras poderiam estar presentes, mas foram extintas e não deixaram representantes na atualidade. Também não significa que uma única mulher tinha essa sequência de bases no DNAm_t, ou que uma única mulher deu origem a todos os seres humanos atuais, como a Eva dos textos bíblicos. A sequência poderia estar presente em muitas mulheres simultaneamente. De qualquer modo, esse e vários outros resultados científicos nessa linha que vieram depois foram muito importantes para a compreensão que temos hoje sobre as origens e as dispersões que ocorreram nas populações humanas modernas desde seu aparecimento.

Em resumo, a pequena molécula de DNA mitocondrial, com características genéticas tão peculiares, trouxe importantes contribuições ao nosso conhecimento em muitos cam-

pos diferentes das ciências que se integram na sua investigação, como, por exemplo, biologia celular de doenças e do envelhecimento, biologia da reprodução, microbiologia, evolução da célula eucariótica, antropologia, evolução e genética das populações de várias espécies, incluindo os humanos.

AGRADECIMENTOS

Aos colegas Dr. Diogo Meyer e Dr. Luis Eduardo Soares Netto pelas sugestões que contribuíram à melhoria do manuscrito.



PARA SABER MAIS

ANKEL-SIMONS, F.; CUMMINS, J. M. Misconceptions about mitochondria and mammalian fertilization: implications for theories on human evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* v. 93, p.13859-13863, 1996.

CANN, R. L.; STONEKING, M.; WILSON A. C. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature* v. 325, p. 31-36, 1987.

DI MAURO, S.; SCHON, E. A. Mitochondrial respiratory Chain Diseases, *N. Engl J Med* v. 348, p. 2656-68, 2003.

ESTIVILL X.; GOVEA, N.; BARCELÓ, A.; PERELLÓ, E.; BADENAS, C.; ROMERO, E.; MORAL, L.; SCOZZARI, R.; DÚRBANO, L.; ZEVIANI, M.; TORRONI, A. Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA A1555G mutation and is enhanced by treatment with aminoglycosides. *Am J Med Genet* v. 62, p. 27-35, 1998.

JOBLING, M. A.; HOLLOWES, E.; HURLES, M.; KIVISILD, T.; TYLER-SMITH, C. *Human evolutionary genetics*. Second Edition, 2014, New York, Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC.

MARGULIS, L. The origin of plant and animal cells. *The American Scientist* v.59, p. 230-235, 1971.

MARTIN, G. M.; LOEB, L. A. Mice and mitochondria. *Nature* v. 429, p. 357-359, 2004.

SAFDAR, A.; BOURGEOIS, J. M.; OGBORN D. I.; LITTLE J. P.; HETTINGA, B. P.; AKHTAR, M.; THOMPSON, J. E.; MELOV, S.; MOCELLIN, N. J.; KIJOTH, G. C.; PROLLA, T. A.; TARNOPOLSKY, M. A. Endurance exercise rescues progeroid aging and induces systemic mitochondrial rejuvenation in mtDNA mutator mice. *PNAS* v. 108 p. 4135-4140, 2011.

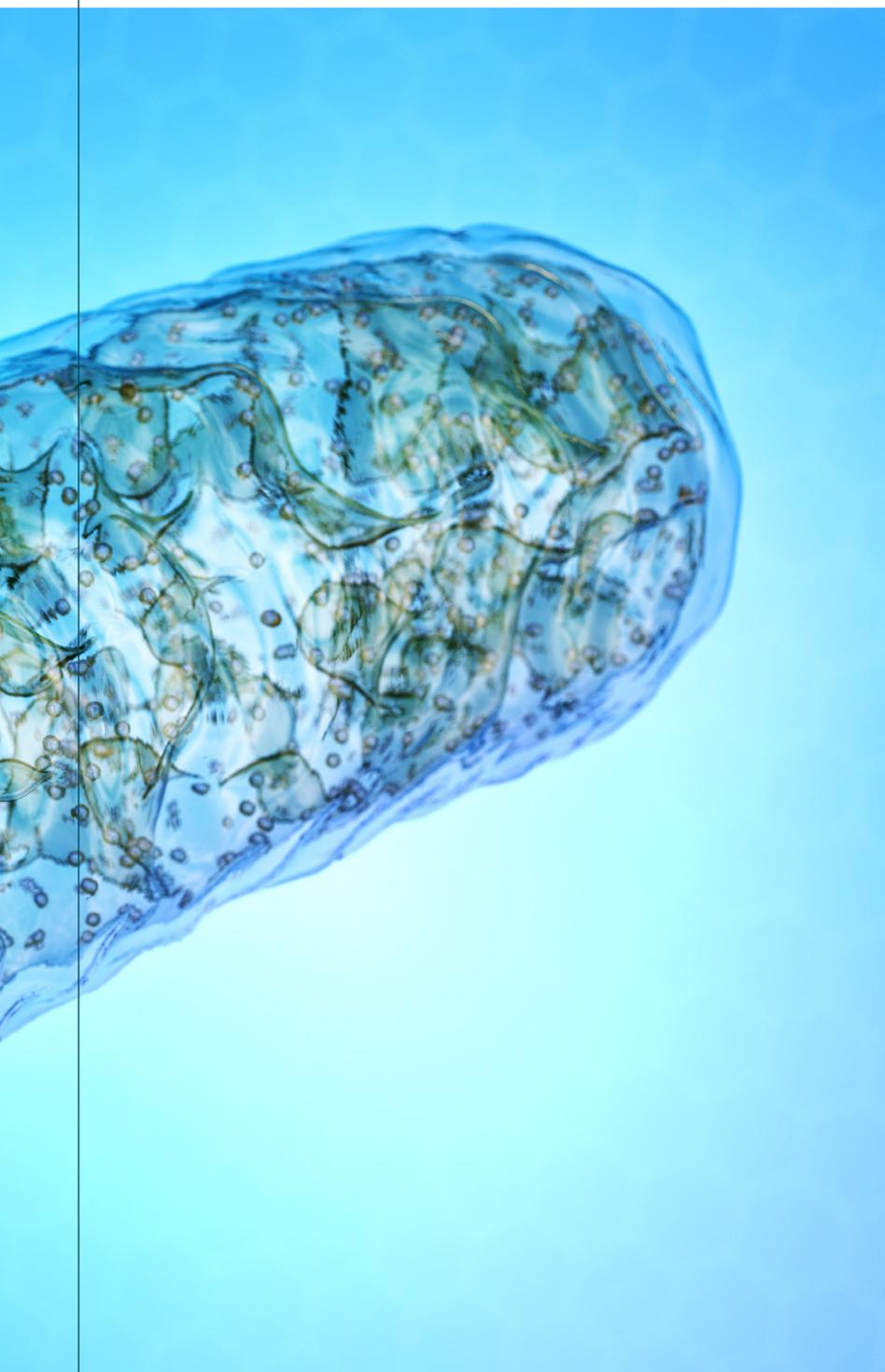
SATO, M.; SATO, K. Maternal inheritance of mitochondrial DNA by diverse mechanisms to eliminate paternal mitochondrial DNA. *Biochimica et Biophysica Acta* v. 1833, p.1979-1984, 2013.

SUTOVSKY, P.; MORENO, R. D.; RAMALHO-SANTOS, J.; DOMINKO, T.; SIMERLY, C.; SCHATTEN, G. Ubiquitin tag for sperm mitochondria. *Nature* v. 402, p. 371, 1999.

TAYLOR, R. W.; TURNBULL, D. M. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nature Reviews Genetics* v. 6, p. 389-402, 2005.

THRASH, J. C.; BOYD, A.; HUGGETT, M. J.; GROTE, J.; CARINI, P.; YODER, R. J.; ROBBERTSE, B.; SPATAFORA, J. W.; RAPPÉ, M. S.; GIOVANNONI, S. J. Phylogenomic evidence for a common ancestor of mitochondria and the SAR11CLADE. *Scientific Reports* v. 1, n.13, p.1-9, 2011.

WALLACE, D. C. A mitochondrial bioenergetics etiology of disease. *J Clin Invest*, v. 123, n. 4, p. 1405-1412, 2013.



PORTAL RECOMENDADO

<http://www.mitomap.org>